

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
4. Januar 2001 (04.01.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 01/00802 A2**

- (51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: C12N 15/00 (81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/05853
- (22) Internationales Anmeldedatum:  
23. Juni 2000 (23.06.2000)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:  
199 29 365.1 25. Juni 1999 (25.06.1999) DE
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): BASF-LYNX BIOSCIENCE AG [DE/DE]; D-69120 Heidelberg (DE).
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MACK, Matthias [DE/DE]; Mönchhofstrasse 3 C, D-69120 Heidelberg (DE). HERBSTER, Karin [DE/DE]; Kolpingstrasse 23a, D-76694 Forst (DE).
- (74) Anwalt: GOLDSCHIED, Bettina; BASF Aktiengesellschaft, D-67056 Ludwigshafen (DE).
- (84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Veröffentlicht:**

— Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: PARTIAL SEQUENCES OF THE GENES OF THE PRIMARY AND SECONDARY METABOLISM FROM *CORYNEBACTERIUM GLUTAMICUM* AND THEIR USE IN THE MICROBIAL PRODUCTION OF PRIMARY AND SECONDARY METABOLITES

(54) Bezeichnung: TEILSEQUENZEN DER GENE DES PRIMÄR- UND SEKUNDÄRMETABOLISMUS AUS *CORYNEBACTERIUM GLUTAMICUM* UND IHR EINSATZ ZUR MIKROBIELLEN HERSTELLUNG VON PRIMÄR- UND SEKUNDÄRMETABOLITEN

(57) Abstract: The invention relates to methods of producing primary and secondary metabolites using genetically engineered organisms.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung befaßt sich mit Herstellungsverfahren für Primär- und Sekundärmetabolite mit Hilfe gentechnisch veränderter Organismen.

WO 01/00802 A2

Teilsequenzen der Gene des Primär- und Sekundärmetabolismus aus *Corynebacterium glutamicum* und ihr Einsatz zur mikrobiellen Herstellung von Primär- und Sekundärmetaboliten

5

## Beschreibung

Die vorliegende Erfindung befaßt sich mit den Herstellungsverfahren für Primär- und Sekundärmetabolite mit Hilfe eines gentechnisch veränderten Organismus. Diese Erfindung besteht in Teilsequenzen von Genen, die anabolische und katabolische Enzyme aus *Corynebacterium glutamicum* kodieren, und aus ihrem Einsatz zur mikrobiellen Herstellung von Metaboliten.

15 Die Konzentrationen der Metabolite sind in lebenden Zellen gewöhnlich gut ausbalanciert und überschreiten nicht eine gewisse Grenze. Unter manchen Wachstumsbedingungen oder als Folge einer gentechnischen Veränderung können sie allerdings im Überschuß gebildet und in das Kulturmedium ausgeschieden werden. Für das Zellwachstum kann man relativ billige Stoffe als Kohlenstoffquelle verwenden. Mit Hilfe des biochemischen Potentials der Zellen (in den meisten Fällen mikrobiellen Ursprungs) oder der Enzyme lassen sich diese preiswerten Stoffe in ein breites Spektrum wertvollerer Substanzen umwandeln. Zur fermentativen Herstellung von Metaboliten zu Verkaufszwecken setzt man insbesondere Mikroorganismen ein. Mikroorganismen lassen sich durch gentechnische Veränderung der Biosynthesewege in ihrer Biosyntheseleistung auf bestimmte Metabolite hin optimieren, und man erzielt dadurch höhere Syntheseleistungen. Gentechnische Veränderung meint hier, daß die Anzahl der Kopien oder die Geschwindigkeit der Transkription bestimmter Gene für bestimmte Synthesewege erhöht ist. Allerdings muß man die geeigneten Zielgene für diese Verbesserung zuerst identifizieren. Wir beschreiben nun im folgenden die Zielgene und Teilsequenzen davon, die durch Klonen der DNA und anschließende Sequenzierung mit dem Ziel der Stammverbesserung identifiziert wurden.

Ein Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 1 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 1 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 2 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 2 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

## 2

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 3 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 3 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

5

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 4 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 4 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

10

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 5 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 5 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

15

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 6 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 6 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

20

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 7 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 7 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

25

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 8 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 8 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

30

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 9 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 9 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

35

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 10 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 10 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

40

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 11 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 11 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

45

## 3

- Ein weiterer Teil der Erfindung besteht im Einsatz der Nucleotidsequenz SEQ ID NR. 1 oder SEQ ID NR. 2 oder SEQ ID NR. 3 oder SEQ ID NR. 4 oder SEQ ID NR. 5 oder SEQ ID NR. 6 oder SEQ ID NR. 7 oder SEQ ID NR. 8 oder SEQ ID NR. 9 oder SEQ ID NR. 10 oder SEQ ID NR. 11 zur Konstruktion genetisch modifizierter Mikroorganismen.

- Die vollständigen Gene lassen sich mit Hilfe konventioneller Techniken wie Hybridisierung herstellen, wobei man von den oben offenbarten Genfragmenten ausgeht. Diese Gene lassen sich einsetzen zur Konstruktion rekombinanter Wirtsorganismen, die die Biosynthese wertvoller Bioprodukte, wie Aminosäuren, Fettsäuren, Kohlenhydrate, Vitamine und Kofaktoren ermöglichen. Die biologische Aktivität dieser Gene wird im experimentellen Teil dieser Beschreibung offenbart. Mit Hilfe dieser Gene wird es möglich, Engpässe bei der Biosynthese von Bioprodukten zu umgehen und so die Syntheseleistung mikrobieller Systeme zu steigern.

- Ein weiterer Gesichtspunkt dieser Erfindung besteht in einem Expressions-Vektor mit zumindest einem der oben erwähnten Polynucleotide. Der Expressions-Vektor verbindet funktionell eines oder mehrere dieser Polynucleotide mit regulatorischen Einheiten wie Promotoren, Terminatoren, ribosomale Bindungsstellen und dergleichen. Gewöhnlich gehören zu einem Expressions-Vektor weitere Einheiten wie Genmarker und Replikationsabschnitte.

Ein weiterer Gesichtspunkt der Erfindung besteht in der mit einem Expressions-Vektor transformierten Wirtszelle.

- Zur gentechnischen Veränderung kann man jeden beliebigen prokaryontischen Mikroorganismus verwenden, vorzugsweise *Corynebacterium*- und *Bacillus*-Arten, aber auch jeden beliebigen eukaryontischen Mikroorganismus, vorzugsweise Hefestämme der Gattung *Ashbya*, *Candida*, *Pichia*, *Saccharomyces* und *Hansenula*.

35

Ein weiterer Gesichtspunkt der Erfindung besteht in einer Methode zur Herstellung und Reinigung eines Polypeptids, die in folgenden Schritten besteht:

- (a) Kultivierung der Wirtszelle aus Anspruch 3 unter Bedingungen, die für die Expression des Peptids geeignet sind; und
- (b) Gewinnung des Polypeptids aus der Wirtszellkultur.

- In den folgenden Beispielen wird die Erfindung detaillierter beschrieben.

## Beispiel 1

Herstellung einer Genombibliothek von *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032

5

Die DNA aus dem Genom von *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032 läßt sich nach Standardmethoden gewinnen, die z.B. von Altenbuchner, J. und Cullum, J. (1984, Mol. Gen. Genet. 195:134-138) beschrieben sind. Die Genom-Bibliothek läßt sich daraus mit jedem beliebigen Klonierungsvektor, z.B. pBluescript II KS- (Stratagene) oder ZAP Express™ (Stratagene), nach Standardvorschriften gewinnen (z.B. Sambrook, J. et al. (1989) Molecular cloning: a laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press). Jede beliebige Fragmentgröße kann man dabei verwenden, vorzugsweise 15 Sau3AI-Fragmente mit einer Länge von 1 kb, die sich in Klonierungsvektoren mit verdautem BamHI einbinden lassen.

## Beispiel 2

## 20 Analyse der Nucleinsäuresequenzen der Genombibliothek

Aus der im Beispiel 1 hergestellten Genombibliothek kann man einzelne *E. coli*-Klone auswählen. *E. coli*-Zellen werden nach Standardmethoden in geeigneten Medien kultiviert (z.B. LB ergänzt mit 100 mg/l Ampicillin), und danach läßt sich dann die Plasmid-DNA isolieren. Klont man Genomfragmente aus der DNA von *Corynebacterium glutamicum* in pBluescript II KS- (siehe Beispiel 1), läßt sich die DNA mit Hilfe der Oligonucleotide 5'-AATTAAC-CCTCACTAAAGGG-3' und 5'-GTAATACGACTCACTATAGGGC-3' sequenzieren.

30

## Beispiel 3

Computeranalyse der isolierten Nucleinsäuresequenzen

35 Die Nucleotidsequenzen lassen sich z.B. mit Hilfe des BLASTX-Algorithmus (Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403-410) aneinanderfügen. Auf diesem Weg kann man neuartige Sequenzen entdecken und die Funktion dieser neuartigen Gene aufklären.

## 40 Beispiel 4

Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit einem Genfragment für die Fettsäuresynthase (2.3.1.85)

45 Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde, an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine

## 5

Sequenz, wie sie mit SEQ ID NR. 1 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) ergab diese Sequenz Ähnlichkeit mit Fettsäuresynthasen aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit war mit einem Fragment mit 519 Basenpaaren für die Fettsäuresynthase aus *Corynebacterium ammoniagenes* gegeben (NRDB Q04846; 68% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

## Beispiel 5

10

Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit dem Gen für die Phytoen-Dehydrogenase (EC 1.3.-.-)

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 2 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit Phytoen-Dehydrogenasen aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit der Phytoen-Dehydrogenase aus *Methanobacterium thermoautotrophicum* (NRDB Q27835; 37% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

## Beispiel 6

25

Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit dem Gen für die Alkohol-Dehydrogenase (EC 1.1.1.1)

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 3 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit Alkohol-Dehydrogenasen aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit der Alkohol-Dehydrogenase aus *Bacillus stearothermophilus* (NRDB P42327; 50% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

## Beispiel 7

40

Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit einem Genfragment für ein Homologes der Adenosylmethionin-8-Amino-7-oxononanoat-Aminotransferase (EC 2.6.1.62)

45 Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine

## 6

Sequenz, die als SEQ ID NR. 4 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit Adenosylmethionin-8-Amino-7-oxononanoat-Aminotransferasen aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit

5 ergab sich mit einem aus 342 Basenpaaren bestehenden Fragment für die Adenosylmethionin-8-amino-7-oxononanoat-Aminotransferase aus *Erwinia herbicola* (NRDB P53656; 40% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

## 10 Beispiel 8

Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit einem Genfragment für ein Homologes der Phosphoglycerat-Mutase 2 (EC 5.4.2.1)

15 Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 5 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz

20 Ähnlichkeit mit Phosphoglycerat-Mutase 2 aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus 204 Basenpaaren bestehenden Fragment für die Phosphoglycerat-Mutase 2 aus *Mycobacterium tuberculosis* (NRDB P71724; 54% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

25

## Beispiel 9

Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit einem Genfragment für die Xylulose-Kinase (EC 2.7.1.17)

30

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 6 beschrieben ist. Bei der Anwendung

35 des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit Xylulose-Kinasen aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus 633 Basenpaaren bestehenden Fragment für die Xylulose-Kinase aus *Streptomyces rubiginosus* (NRDB P27156; 48% Übereinstimmung auf der Stufe der

40 Aminosäuren).

## Beispiel 10

Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit einem Genfragment für

45 eine Fettsäure-CoA-Ligase für langkettige Fettsäuren (EC 6.2.1.3)

## 7

- Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 7 beschrieben ist. Bei der Anwendung
- 5 des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit Fettsäure-CoA-Ligasen für langkettige Fettsäuren aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus 369 Basenpaaren bestehenden Fragment für die Fettsäure-CoA-Ligase für langkettige Fettsäuren aus *Archaeoglobus*
- 10 *fulgidus* (NRDB 030302; 48% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

## Beispiel 11

- 15 Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit einem Genfragment für die Guanosinpentaphosphat-Synthetase

- Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene
- 20 Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 8 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit Guanosinpentaphosphat-Synthetasen aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus
- 25 606 Basenpaaren bestehenden Fragment für die Guanosinpentaphosphate-Synthetase aus *Streptomyces coelicolor* (NRDB 086656; 70% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

## Beispiel 12

- 30 Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit einem Genfragment für ein NTRB-Homologes

- Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene
- 35 Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 9 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit NTRB-Homologen aus verschiedenen Organismen. NTRB
- 40 ist ein Regulatorgen für die Transkription, das an der Regulierung der Stickstoffassimilation beteiligt ist. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus 645 Basenpaaren bestehenden Fragment für NTRB aus *Mycobacterium leprae* (NRDB Q50049; 61% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

45



## Beispiel 13

Identifizierung eines *E. coli*-Klons, der ein *nifS*-Homologes enthält

5

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 10 beschrieben ist. Bei der Anwendung  
10 des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit *nifS* aus verschiedenen Organismen. *NifS* ist an der Stickstofffixierung beteiligt. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus 594 Basenpaaren bestehenden Fragment für *nifS* aus *Mycobacterium leprae* (NRDB Q49690; 62% Übereinstimmung auf  
15 der Stufe der Aminosäuren).

## Beispiel 14

Identifizierung eines *E. coli*-Klons, der ein *nifU*-Homologes ent-  
20 hält

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine  
25 Sequenz, die als SEQ ID NR. 11 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit *nifU* aus verschiedenen Organismen. *NifU* ist an der Stickstofffixierung beteiligt. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus 339 Basenpaaren bestehenden Fragment für *nifU*  
30 aus *Mycobacterium leprae* (NRDB Q49683; 61% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

## Sequenzliste

## 35 (I) Allgemeine Angaben

## (1) Anmelder:

(A) Name:	BASF-LYNX Bioscience AG
40 (B) Straße:	Im Neuenheimer Feld 515
(C) Stadt:	Heidelberg
(D) Land:	Deutschland
(E) Postleitzahl:	69120
(F) Telephon:	06221/4546
45 (G) Telefax:	06221/454770

9

(2) Titel: Sequenzen der Gene für den Primär- und Sekundärmetabolismus im *Corynebacterium glutamicum* und ihr Einsatz zur mikrobiellen Herstellung von Primär- und Sekundärmetaboliten

5

(3) Anzahl der Sequenzen: 11

(4) Art der mit dem Computer lesbaren Form:

10

(A) Datenträger: Diskette  
 (B) Computer: IBM PC kompatibel  
 (C) Betriebssystem: Windows NT  
 (D) Software: Microsoft® Word 97 SR-1

15

(I) Angaben zur SEQ ID NR. 1:

(1) Sequenzcharakteristika:

20 (A) Länge: 693 Basenpaare  
 (B) Art: Nucleinsäure  
 (C) Strangtyp: Doppelstrang  
 (D) Topologie: linear

25 (2) Molekülart: DNA  
 (3) hypothetisch: nein  
 (4) Antisense: nein

(5) Herkunft:

30

(A) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 1:

35 CTGTTNCCCGGGGATCAGATTCACNNGGTCNGCCAGTGAAGTCGACGGTGATTGGCGCGGATGC  
 TGCCTGCTCGCGAACAGTGGAAGTTGCCTGGGACAGCAGTTTCTCTGCAATTTCTTGGGTGGAGT  
 AGGTTTCCACGCCTGCTTCTTCAGCTGCCTTGACCAAAGGATCGTTGCCGCCCATGAGGCCGGTG  
 CCGCGAACCCCAACCGATGTGAGCGTGCACGAGGAGGTGTGTGCTCCCATGCAGCTTGCTCTGC  
 GTTCCAACGGGTAACCAACGGCGTCGAGAGCTGCCTTGGATTACCGTATGCACCATCGCCACCGA  
 40 AGCGTCCACGGTTTGGTGAACCTGGGATGACCACGTGCAGGCGGTGACCCACGTTGATGGAGGAG  
 CCCAATGGCGCAAGACCTGCGATGAGGCGCTCAACAGACCAGAGCAGAAGTCGCATCTGGGATTC  
 TGCTGTGGCTGCATCTGCATGGATCCGGACACGCGAGGTGCCGGAATGGGAACAGCAAGGTAN  
 GGACCAAACTGGCTTGACCAGCTTGGATGCNCGTGACGGNGGTGGCTGTGCGATCCACCCAGTTGA  
 TGATGGCTCGATGTCTGATANGACTAAGTTACCGCACGATCACAGTGTGCTGCCGNTGCCGAA  
 45 CGTCTANNANTCTTGAGAATTCAGCCGNTGGCCGAGTTGAN

10

(I) Angaben zu SEQ ID NR. 2:

(1) Sequenzcharakteristika:

- 5 (A) Länge: 1869 Basenpaare  
(B) Typ: Nucleinsäure  
(C) Strangtyp: Doppelstrang  
(D) Topologie: linear  
(2) Molekülart: DNA  
10 (3) hypothetisch: nein  
(4) Antisense: nein  
  
(5) Herkunft:  
  
15 (B) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 2:

ACAATCAATGTCATGACCAGCGGTGATCCAAAATTAATTACGCTTCGTTCCCGCAATAACAAAGT  
20 TGTGCGAAATAACAGATGCCCGTGATCGTGCTTTCATTAAGCAGGCTGATGAGCTGATCGTGAAGA  
TCGACAAACTGCTTGAGAGCAAAAGAAAAAGTCCCGTTAAGTCCGATCCACACTGTTGTCCCG  
CGGAGACGCTTGAGCACGTTTCTGCAGAGATCAAACACATAGATACGCCACCCCTGGAAGTGT  
GGTGTACCTGCGTCATACAGGCCATCTACTTTGCGGGATTGTGTAGAACCCCTAAAGAACGCCG  
ATTGTGCCAGGGTGTGTGAGGGGCCAATGGACCCGCCGCTCCAGGAGTTGTATCGGTCTGCGAAG  
25 TCGGCAGGGCCGATGGTGCCTGCACAACAATGCGGCTTTCCAAACCATCAATGCCAGCCCATCG  
CCCAATTTGAGCCACTGCTGCTATTCGCGATCCGGCCACCATGTGAGATTCTTCTCCGTAAGCGG  
ACCCGTGACCAATGGAGACATCGGCGGGTACTGGGACCAGGATGAAGAGGTTCTCGTGGCCTTCG  
GGTGGGCATCGGAATCTGTTGCGGAGGTCTTGGAGATCTAGATGGATTCTGAAGCCGGGAATTC  
TGGGGTGGAGCCGTCGAAAACCTTTGCGGAAATCTTCGTCCCAGTCGGAGGAAAAAGCAGGGTGTG  
30 CTCCCCCTTCACGCCTGCCAAAACCAGCACAGTACTGAGGCCGGGTGTTGTTTGTCTTCCAGCTCG  
TCTCCGGCTTCGCGCACAAACGAAGCAGGTAGGAGTTGGGTTTCGGTGTGGTGTGATCAGCGCAG  
CTGATCACGATATCGGCTTCGATGAACTCTGAGCCGACTTGGACGCCTGTGGCGTTTCGGCCTTG  
GGTGGTGATTGCGCTGACGGGGGTGCCGAGGTGGAGACGGCGTCGTCGATAAGCGAAATTAGTG  
CCTTGATGAAGCGGTGAAGCCGCTCGGGGATAGGAGACGCCTTGGACGAGGTGCGGTGTGGCTC  
35 ATGAGGTGATAGAGCGCCGGGTGTGCGAAGGGTCTGAGGAGAGGAAAACCTGCGGGGTAGCTTAA  
GATTTGGCGCAGTTTTGTATCGCGGAATTGGGTGTTGACCTTGACTTTTACGAGGTGACAGGC  
TTGCTAGAAGTTTGGGTAAGGCGCAGCATGCCGGGGCTTAAGTATGGGATGAAGTTGGTGAAG  
TTGGTGTAGAGGAAGCCGTCGATGGCCAGGTTGTAGACCTGTGTGGCGGAGTCGATATAGGTGCG  
CAGTTTGGCGCGCGCGGTTTCGCGGGATTTCGAAAAGCTCGGCCATCGCATGATGTCGGAGG  
40 TGACGTCGATGAATTCCGCGTGGTGTGTCGATGACGCGGTAGGCGGGTTCAAGTGGCACGAGGTG  
AGGTGGTGTGATGGAGGTGCCGAGAGCTTAAAGAAGTGGGACATGGCGTCGGCATGAGGTA  
CCAGCTGGGGCCGGTGTCCAGCGGAAGCCGTCGAGTTTGAAGGTCCCGGCGCGGCCGCGAGGT  
GCTCGTTTTGTTCGACGAGGTGGACTTCATATCCTTCGCGTAAGAGCAGTGGGTGGTGGCTAGT  
CCTGCTAGTCCCCCGCGATGACCACTGCTTTTGTGATTTTTGAAACACTTCTTTCCACATTGCT  
45 TTGGTTGCCAGGCTGGCTTTTTCATAGACGGCACCCGAATCCGCCGTTTTTTAAGTCTTCGAG

## 11

GGACGCGGATTCCAGGTTGTCCACGAGGCAACCGTAGAGATCGGTGCGGGCGCGCACACCGGTTTC  
GCGCGCCAAATGGCAGCAGCGGAATGCTCAGCCGGGCGGCATCCAAATC

(I) Angaben zur SEQ ID NR. 3:

5

(1) Sequenzcharakteristika:

(A) Länge: 1035 Basenpaare

(B) Typ: Nucleinsäure

10 (C) Strangtyp: Doppelstrang

(D) Topologie: linear

(2) Molekularart: DNA

(3) hypothetisch: nein

15 (4) Antisense: nein

(5) Herkunft:

(C) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

20

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 3:

ATGACCACTGCTGCACCCCAAGAATTTACCGCTGCTGTTGTTGAAAAATTCGTTTCATGACGTGAC  
CGTGAAGGATATTGACCTTCCAAAGCCAGGGCCACACCAGGCATTGGTGAAAGGTACTCACCTCCG  
25 GCATTTGCCACACCCGACCTCCACGCCCTTGGAGGGCGATTGGCCAGTAAAGCCGGAACCACCATTC  
GTACCAGGACACGAAGGTGTAGGTGAAGTTGTTGAGCTCGGACCAGGTGAACACGATGTGAAGGT  
CGGCGATATTGTCGGAATGCGTGGCTCTGGTCAGCGTGTGGCACCTGCGAATACTGCATCACCG  
GCAGGGAACACTCAGTGCAACGAAGCTGAGTATGGTGGCTACACCCAAAATGGATCCTTCGGCCAG  
TACATGCTGGTGGATACCCGTTACGCCGCTCGCATCCCAGACGGCGTGGACTACCTCGAAGCAGC  
30 ACCAATTCTGTGTGCAGGCGTGACTGTCTACAAGGCACTCAAAGTCTCTGAAACCCGCCCCGGGCC  
AATTCATGGTGATCTCCGGTGTGCGCGGACTTGGCCACATCGCAGTCCAATACGCAGCGCGGATG  
GGCATGCGTGTCTATGCGGTAGATATTGCCGATGACAAGCTGGAACCTTGCCCGTAAGCACGGTGC  
GGAATTACCGTGAATGCGCGTAATGAAGATTGAGGCGAAGCTGTACAGAAGTACACCAACGGTG  
GCGCACACGGCGTGCTTGTGACTGCAGTTACAGAGGCAGCATTCGCGCCAGGCACTGGATATGGCT  
35 CGACGTGCAGGAACAATTGTGTTCAACGGTCTGCCACCGGGAGAGTTCCACGATCCGTGTTCAA  
CATCGTATTCAAGGGCCTGACCATCCGTGGATCCCTCGTGGGAACCCGCCAAGACTTGGCCGAAG  
CGCTCGATTTCTTTGCACGCGGACTAATCAAGCCAACCGTGAGTGAGTGCTCCCTCGATGAGGT  
AATGGTGTGCTTTACCGCATGCGAAACGGCAAGATCGATGGTGTGTCGCGATTCTGTTTC

40 (I) Angaben zur SEQ ID NR. 4:

(1) Sequenzcharakteristika:

(A) Länge: 1002 Basenpaare

45 (B) Typ: Nucleinsäure

(C) Strangtyp: Doppelstrang

12

- (D) Topologie: linear
- (2) Molekülart: DNA
- (3) hypothetisch: nein
- 5 (4) Antisense: nein
- (5) Herkunft:
- (D) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*
- 10 (6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 4:
- AAGTGGAGCTCGCGCGCCTGCAGGTGACACTAGTGGATCAGAGGCATACCTCCGGCGGACTCACC  
TACTCCGGACACCCACTTGCAGTAGCACCCGCCAAGGCAGCGCTGGAGATTACGCGGAAGGAGA  
15 GATCATTCCACGCGTAGCTCGACTTGGCGCTGAACTGATCGAACCTCGCCTTCGTGAACTAGCGG  
AAGAAAACGTAGCGATCGCTGACGTGCGGGGCATCGGATTCTTCTGGGCAGTGGAGTTCAATGCA  
GACGCCACTGCCATGGCTGCGGTGCTGCAGAATTCAAGGAACGCGCGCTGCGCCGATGATCTC  
CGGCAACCGATTCCACATCGCGCCGCGCTGACCACCACTGATGACGAATTGGTAGCACTGCTGG  
ACGCGGTGGAAGCTGCAGCCCAAGCTGTCTGAGCTGACCTTCGCTGGGGCGTTGTTCTAAGTTTTC  
20 TAGATAACAAGGCCAGCACAGACCACCATNTCTACGACCCCAAAAACCGACTCCAAGCTCCGCGG  
CGACNAANCCGCGCTCGCGCCACCGACCAAGCAGCCGGTCCAGGTTTAAAGATTTTGCTTTTCGA  
CGTCCCTCCACCTCATTCAATGCGGCGGAAGGGATTTCTTGCATGTTTAAGCCTATAGGAAA  
AAGTGTTTGATATCACCTTGTATTCCAACACTTGAGCGGGTAGANTGGGTGGTAACNACCCNG  
GGAAAGGGGGAAGACACCATGAGCATCNCCACNCANTCCAAGCNCTCNCCACAGCANTCAACGC  
25 CATCNACAACCATTGGNCAGCATGCTCNAACATNGTGTTCNCCANAAACATANANGGCNTNNA  
NCCCAGCTCANCNCCTANAAACNCCTTCACCACACGCCNCCTTCGNCCCCAAACCAACCCCTCG  
CCNAAGCNCAACNCGCCACNCATTNGCTCCCCNCCTCNTNNAACCTNCCNCCCTTCGGATATCN  
AGCANGCGCCNACCGNTCATTNCCN
- 30 (I) Angaben zur SEQ ID NR. 5:
- (1) Sequenzcharakteristika:
- (A) Länge: 1007 Basenpaare
- 35 (B) Typ: Nucleinsäure
- (C) Strangtyp: Doppelstrang
- (D) Topologie: linear
- (2) Molekülart: DNA
- 40 (3) hypothetisch: nein
- (4) Antisense: nein
- (5) Herkunft:
- 45 (E) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

## 13

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 5:

TCCCNATTGGGTACCTTACCTGGTACCCACCCGGGTGGAAAATCGATGGGCCCGCGGCCGCTCTA  
GAAGTACTCTCGAGAAGCTTTTTGAATTCTTTGGATCCGAGCTGAACACATGGGTGATGTTTTTT  
5 TGAACCAGCACTGAGGCTGCGCTGGCCGCCGTGTGAAAGCCCAGGTCAGACAGCTCTGTGTCCAA  
TTGTCCCTGCATTGCGGACGTGGCGTTGTATTTCAGTCTGCCCCGTGTCGGAGCAGAATCAGGCGAC  
GAGTCACAGGACTACCTCTTAATCGTCTCTAGCCAGGCTCGTATTTCAGCTGGCAAAGGTGGGA  
GTTTCATCAATGCTGTGATGTTGCGGATATCCGCCTCATCAGACCAGGAGATNCACGCNTGAAG  
GTTTCAAGTCCCTTCAATTTCAATGAGTGGGCAGTCNCGGTACAGACNATCCANTCCGTATAACTC  
10 GCGCTCTGCTGTGCTGAACGTGGATAACAACCNATCCGTAGTCAAGGAGAACCCAAACNGTTTT  
CGCGGTTGCCTTCACGGCGCTTAGGCTCGAAACCAGCCTTGGTCATCTNCATCTTCGATCTCCTC  
NACAATGGCGCCCACCTTGGCGCTCATTTGTCCGAGATGCAACNACNAANCAATTCTCGTGATT  
GNGCATCACTGTGTCNNAACATCCAATNACAGCGATGTCNNCNGCCTTTCTTTTCNTGCCGCTGCT  
TTCGCCNCCATGGTCCCGAAGCCGATCGANTCCTCCATNTGCANATCAAAATTCNNTAAANCAGC  
15 TNCNTGTNGTTCNCNACCCNCNTTTTTANGGTCCGAAACCNACCTTNCNGAAANAATCCCCACGTC  
AACCTTCCCTNTTTCCCNCTANACCGGGTGATTCNCTACTTTNGGNTCGAATTTAAACTTTTNA  
NCANATTTCTCTNGTTTGGGCCTTGGGATCATTCCCCTATTTCGATCCTNCTGGTCAAAAATTG  
GGNTTNGGTATTCTTCNCCACCCCCCANGGA

20 (I) Angaben zur SEQ ID NR. 6:

(1) Sequenzcharakteristika:

- (A) Länge: 748 Basenpaare  
25 (B) Typ: Nucleinsäure  
(C) Strangtyp: Doppelstrang  
(D) Topologie: linear

- (2) Molekülart: DNA  
30 (3) hypothetisch: nein  
(4) Antisense: nein

(5) Herkunft:

- 35 (F) Organismus:
- Corynebacterium glutamicum*

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 6:

TTGANNCNTTNNNGGAGCTCCCCGCGGTGGCGGCCGCTCTAGAACTAGTGGATCGACACGCTGAC  
40 ATCACCAGGCTGCAATCAAGGCCAAGCGCAGCCGAGCATTATCTCCCGTGCCTGCAGCAACTT  
TCACTCCACCTGGAGTTGTTCGCGCAATCGCATTTGGGGCCAGGAGTTTCAGGAAGTTCCACCTCA  
TGGCCCAGCGCCAAGGCAGCTAGATCGGTGCGCCACGCACGATCACGCGTGTGTAGTAGCCCGT  
TCCAGAAGCATCACCATGGTGGTGACTTTGCGTCCGCGTCCCATCAATGCCAGGTGAGGAAAT  
CATGAGGCAACATACCGACGCCGTGCGCGCTGCATTTTCTGGTTTCATGATCACGCATCCACCGC  
45 ATTTTGGTGGCAGTTAAAGAAGCAACATACACACTTCCCGTGGCATCTACCGCAGCCTGATCGCC  
GCCGATCTCCTCATFGAGATCCAACGCAGCCTGGGCAGAACGAGTGTCATTCCATAACAACGCCG  
GGCGAACGATTTCATCGTTTTCATCCAACGCCACCATGCCGTGCTGCTGGCCTGCAATAGATACA

## 14

GCGTCCGCGCGTTCTAACAACCCCTCGGTAGCTTGATCCAGCGCAGCGATCCACGCACGTGGATC  
TACTTCGACCCGTTCCGGGTGACTCGCGCGGCTTCGTTCGATACCTGGCCGGTGGCGGCGTCACAA  
GCAAAAGCCTTGCAGGAATGGGTGGGAACATATC

## 5 (I) Angaben zur SEQ ID NR. 7:

## (1) Sequenzcharakteristika:

- (A) Länge: 648 Basenpaare  
10 (B) Typ: Nucleinsäure  
(C) Strangtyp: Doppelstrang  
(D) Topologie: linear  
(2) Molekülart: DNA  
(3) hypothetisch: nein  
15 (4) Antisense: nein  
  
(5) Herkunft:  
(G) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

## 20 (6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 7:

TGCAGCCCGGGGATCACCGACGCCAAGGCTACGTAGGAATCCCCTTCCCCGACACCATCGTGCG  
CATCGCAAACCCAGAAAACCTCGACGAAACCATGCCCCACGGCAGCGAAGGCGAAGTCCTAGTCA  
AGGGCCACAGGTGTTCAAGGGTTACCTCAACCAGGAAGAAGCCACCAAGAACAGCTTCCACGGC  
25 GAGTGGTACCGCACCGGCGACGTGCGAGTGATGGAAGAAGACGGGTTTCATCCGCTAGTTGCTCG  
CATCAAGGAAGTCATCATCACTGGCGGTTTCAACGTGTACCCAGCTGAGGTTGAAGAAGTCCTCG  
CAGAGCACCCAGACATTGAAGATTCCGCGAGTCGTTGGTATCCCGCGTGAAGACGGCTCCGAAAAC  
GTCGTTGCTGCATCACTTTGGTGGAAGGTGCAGCGCTGGATCCGGATGGCCCTGAAGGAATTTCGCC  
GCAAGAACCTACCCGCTCAAGGTTCCGCGCACTTTCTACCACTTTGAGGAGATGCCGCGGGATCA  
30 GATGGCAAGATTAGGCGTCGTGAAGTGCANGCGGAGTTGTTGAAGAACTCGGCAGTNACGCCGAT  
TAAGAGGTCAGTTTCCAAATGGCACTTACCAATTGGNCTAGTTACCCCCANAAGCATTTTGAGGG  
TTCCACTTTTACCCAGTGGGNTGTGTGATCCTNT

## (I) Angaben zur SEQ ID NR. 8:

35

## (1) Sequenzcharakteristika:

- (A) Länge: 698 Basenpaare  
(B) Typ: Nucleinsäure  
40 (C) Strangtyp: Doppelstrang  
(D) Topologie: linear  
  
(2) Molekülart: DNA  
(3) hypothetisch: nein  
45 (4) Antisense: nein

## 15

(5) Herkunft:

(H) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

5 (6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 8:

GCAGCCCGGGGGATCCTTGGTGNCACCACCCTGGACATGCTCAAGATGGAACAGCAAATCGACTC  
CCTGGCACCAGGCGATGCGAAGCGCTACATGCACCACTACAACCTCCCTCCATACTCCACCGGTG  
AAACCGGTCTGTGGGCTCACCAAAGCGCCGAAATCGGCCACGGTGCACTTGCAGAACGCGCA  
10 GTTTTGCCAGTAATCCCATCCCGTGAGGAATTCCCATACGCAATCCGTCAGGTCTCTGAAGCTCT  
GGGCTCCAACGGCTCCACCTCCATGGGCTCTGTCTGTGCATCCACTCTGTCCCTGTACAACGCTG  
GTGTTCCTACTGAAGGCACCTGTTGCAGGTATCGCCATGGGACTTGTTCGGGTGAAATCGACGGC  
AAGACCGAGTACGTTGCACTGACCGACATCCTCGGCGCAGAAGACGCATTCGGCGACATGGACTT  
CAAGGTTGCCGGCACCAGACTTCATACCGNACTTCAGCTGGACACCAAGCTGGACNGCATTCC  
15 TTCAAGGTGCTCTCCGATGCGCTTGAGCANGCACGCGATNCCGACTGCATCTGAACACATGGCT  
GATGTATCAACGGACCTTGATGAGATGAGCAAGTTCGTTCTGCATACCACCGNGAAATCCCATGG  
CAAATCGNGACTGTGACCAAGGGTAGACATTACGCTTTACNATTCC

(I) Angaben zur SEQ ID NR. 9:

20

(1) Sequenzcharakteristika:

(A) Länge: 1159 Basenpaare  
(B) Typ: Nucleinsäure  
25 (C) Strangtyp: Doppelstrang  
(D) Topologie: linear

(2) Molekularart: DNA  
(3) hypothetisch: nein  
30 (4) Antisense: nein

(5) Herkunft:

(I) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

35

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 9:

TTNANNCGTTTGGAGCTCCCCGCGGTGGCGGCCGCTCTAGAACTAGTGGATCACACAAAATGATT  
AGATTGTGTGCGAATTCATCCAATTGCTGTCTATATGCAGTACGCATGGCAACACTATAAGGCGA  
40 TAATGGTATTTCTGCAGGCCTAAACACCCCTTTAAGATTGAATCACCTAATAATGGGGGATAGC  
CAACTATTGGCGGGGGTAAGT  
ATTAAATTAACTACCCTCCGGAGTTTTCATTCTGCGCCTTTAGGAACAGTGGCATCCTCAGGA  
TCGTCCAACCAQCCTCTGGAAGTGCCACCTTTGCAGGAGCGCCCTGTGACCTCGTGACCTTC  
CGGTCCTCTGCCTTGCGGTGAGTACAGCCATGGTGCTAGGAGATCCTCAAGCTCCACATAGG  
45 TGGAACCTTGGCCAGATTGGAGCGGAATTCGCCGCCAACAGGGAAACGCGCAGGTCCAACCCA  
TGTGCTTACGCAGATCGCGCAGCCCCCTTGGTTTCGCCATCATGCTGCATGAGGAGTTCTGCGTGG  
CGCAGGATGATTTGGGTAACTTCGCCGAAGGTAGGCTCCTCTGGGATTTCTTCTCCACGAACAGC



## 16

AGCAGCAGCTCAGCAAAGAGCCAAGGCCTGCCAGGCAACCACgGCCCAACCACGACGCCATCGC  
 AGCCAGTTTGCTCCATCATGCGCGTTGCATCGGATGCCGCGAAAATATCGCCATTGCCAAAAC  
 GGGATGCCCGGTATCTGCCAAATGCTCYTTTCAGGCGCGGATCTYGTTCGAATCAGCCTCACCGGA  
 ATAGCGCTGCGCCGAGTGCGGGCGTGAAGCGCTACGGACTTCGCGCCGGCGTCGACAGCAATGC  
 5 GTCCAGCATCCAAGTGAGTATGGTGCTCATCATCAATACCAACGCGGAACTTCACCGTCACCGGA  
 ATGTCCGTGCCTTCCGTAGCCTTCACAGCCGCGGAAACGATGTTTTCAAACAAACGGCGCTTGTA  
 AGGAATCGCAGAACCGCCACCCCGCGCGTGACCTTTGGAACCGGGCAGCCAAAGTTCATATCAA  
 TATGATCCCCCGGGCTGCAGGAATTGATATCAAGCTTATCGATACCGTCGACCTCGAGGGGGG  
 CCCGGTACCCAGCTTGTGTTCCAANGNTCCAA

10

(I) Angaben zur SEQ ID NR. 10:

(1) Sequenzcharakteristika:

- 15 (A) Länge: 761 Basenpaare  
 (B) Typ: Nucleinsäure  
 (C) Strangtyp: Doppelstrang  
 (D) Topologie: linear

- 20 (2) Molekularart: DNA  
 (3) hypothetisch: nein  
 (4) Antisense: nein

(5) Herkunft:

25

(J) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 10:

30 TTGAANCCTTANNGGAGCTCCACCGCGGTGGCGCGCTCTAGAAGTAGTGGATCTCGATTCACT  
 CGAGCTTGATGAAACTGTCAAGGTCGTTGCCTTCACTCACCAGTCCAATGTGACCGGTGCTGTGG  
 CTGATGTTCCAGAGTTGGTTCGTGCGTCCAAGGCTGTCGGCGCTCTCAGGTGCTTGATGCGTGC  
 CAGTCTGTTCTCATATGCCAGTGAATTTCCACGAGCTGGATGTAGATTTCTCTGCATTCTCTGG  
 CCATAAGATGCTGGGACCTGCAGGCGTGGGCGTTGTGTATGCAAAGTCCCCAATCTTGGATGAAC  
 35 TGCCACCATTTTGGACTGGTGGTTCCATGATTGAAGTTGTCAACATGGAGGGTTCCACCTACGCT  
 GCCGCACCTCAACGTTTGTAGGCCGCGCACGCAGATGACCAGCCAGGTTGTGGGCTTGGGTGCTGC  
 CGTGGACATGCTGAATGAAATCGGTATGGAAGCAATCGCAGCNGCATGAGCACGCATTGACTGCT  
 TACGCGTTGGAAAAGCTCACGGCAATTAAAGGGACTAACCATTTGCTGCTCTTTGACTGCAGAG  
 CATCGCGNGGTGCAATCAGCTTCNGTGTGTCNANGGCATTACCNACACGATCTANGGCAAAGTGC  
 40 TTGACCATCAGGGCGTGAATATTCGNGTCGGGCACCACTGTGCGTGGGCGCTGCACCGCANCATT  
 GAACGTNCAATNGNANACAAGAGCATTTTCTATCTCTATTACACC

(I) Angaben zur SEQ ID NR. 11:

45 (1) Sequenzcharakteristika:

- (A) Länge: 791 Basenpaare

17

(B) Typ: Nucleinsäure  
(C) Strangtyp: Doppelstrang  
(D) Topologie: linear

5 (2) Molekülart: DNA  
(3) hypothetisch: nein  
(4) Antisense: nein

(5) Herkunft:

10

(K) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 11:

15 TTGACCCTTTAGCTGGGTACCGGGCCCCCCTCGAGGTGACGGTATCGATAAGCTTGATATCGA  
ATTCTGTCAGCCCGGGGATCTTCATCGCCAACAACTGACCGGGGAAACGATCATCTTCTCAA  
ATTCTGTGAGCTTTTCCAGCGCCTTGTCGACGGGTTGGCCCACGATCTCCTCGGCCATAACGGAC  
GTGGAGGCCTGGCTGATTGAGCAACCAACTGCTTCGTAGGAGACGTCTCCACGGTGGAGCCGTC  
CTCAGACAGCTTCACGCGCAGAGTCAATTCGTCGCCACAAGAAGGGTTGACGTGGTGAACCTCAG  
20 CATCGAAAGGATCCCGAAGGCCCTTGTCGTGTGGGTTTTTGTAGTGGTCCAGGATCACCTCTGG  
TACATCTGCTCAAGGTTCACTTACTCAACTCCAAAGAATTGCTTGGCCTTCTCGATCGCTGCCGCG  
AGGCGGTTCGATTTCTTCGAAGGTGTTATAGAGATAGAAAGATGCTCTTGCTGTTCGATTGTACCGT  
TCATGCTGCGGTGCACGGCCACGCGCAGTGGTGGNCGACGCCGATATTACGCCCTGATCGTCA  
AGCACTTGGCCTAANCCTGTGGGTGAATGCCTCGACACCGAACTGATGCACCGCGNCTGCTNTN  
25 CATCAAAAGGACCANCNATGGGTAAGTCCTTAATGCCGNGAGCTTTTCAACGCGTAAGCAGGTAA  
TGCNNCTATGCNCTGCGATGNTTTCATACCGATTNNTTAAGANTNTCCCGGNGTNCNNANCCC  
NAACTGGTTN

30

35

40

45

## Patentansprüche

1. Ein gereinigtes Polynucleotid mit einer Nukleinsäuresequenz,  
5 die aus der folgenden Gruppe ausgewählt ist: SEQ ID NR. 1, SEQ ID NR. 2, SEQ ID NR. 3, SEQ ID NR. 4, SEQ ID NR. 5, SEQ ID NR. 6, SEQ ID NR. 7, SEQ ID NR. 8, SEQ ID NR. 9, SEQ ID NR. 10, SEQ ID NR. 11.
- 10 2. Ein Expressions-Vektor mit einem dem Anspruch 1 entsprechenden Polynucleotid.
3. Eine Wirtszelle, die mit dem Expressions-Vektor aus Anspruch 2 transformiert ist.
- 15 4. Eine Methode zur Herstellung und Reinigung eines Polypeptids, die aus folgenden Schritten besteht:
  - (a) Kultivierung der Wirtszelle aus Anspruch 3 unter Bedin-  
20 gungen, die für die Expression des Peptids geeignet sind; und
  - (b) Gewinnung des Polypeptids aus der Wirtszellkultur.

25

30

35

40

45